FACULTÉ DE MEDECINE DE PARIS

ANNÉE 1939

# THÈSE

N° 338

POUR LE

# DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

*(Mention Médecine)*

PAR

**Nasser CHARGHI**

Né le 25 octobre 1911, à Téhéran (Iran).

# La Réaction de Hecht et quelques modifications intéressantes de cette Réaction

*Président :* M. L. TANON, *Professeur.*

PARIS
AMÉDÉE LEGRAND, ÉDITEUR
93, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 93

1939

FACULTÉ DE MEDECINE DE PARIS

ANNÉE 1939

# THÈSE

N° .....

POUR LE

## DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

*(Mention Médecine)*

PAR

**Nasser CHARGHI**

Né le 25 octobre 1911, à Téhéran (Iran).

# La Réaction de Hecht et quelques modifications intéressantes de cette Réaction

*Président :* M. L. TANON, *Professeur.*

PARIS
AMÉDÉE LEGRAND, ÉDITEUR
93, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 93

1939

## LE DOYEN ..... M. TIFFENEAU

## I. — PROFESSEURS

| | MM. |
|---|---|
| Anatomie | ROUVIÈRE. |
| Physiologie | Léon BINET. |
| Physique médicale | STROHL. |
| Chimie médicale | POLONOVSKI. |
| Bactériologie | Robert LEBRÉ. |
| Parasitologie et histoire naturelle médicale | BRUMPT. |
| Pathologie et thérapeutique générales | BAUDOUIN. |
| Pathologie médicale | ABRAMI. |
| Pathologie chirurgicale | MONDOR. |
| Anatomie pathologique | LEROUX. |
| Histologie | CHAMPY. |
| Pharmacologie et matière médicale | TIFFENEAU. |
| Thérapeutique | HARVIER. |
| Hygiène et médecine préventive | TANON. |
| Médecine légale | BALTHAZARD. |
| Histoire de la médecine et de la chirurgie | LAIGNEL-LAVASTINE |
| Pathologie expérimentale et comparée | FIESSINGER. |
| Hydrologie thérapeutique et climatologie | CHIRAY. |
| Clinique médicale | LOEPER. CARNOT. CLERC. Marcel LABBÉ. |
| Hygiène et clinique de la première enfance | LEREBOULLET. |
| Clinique des maladies des enfants | NOBÉCOURT. |
| Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale | H. CLAUDE. |
| Clinique des maladies cutanées et syphilitiques | GOUGEROT. |
| Clinique des maladies du système nerveux | GUILLAIN. |
| Clinique des maladies infectieuses | LEMIERRE. |
| Clinique chirurgicale | CUNÉO. GOSSET. GRÉGOIRE. LENORMANT. |
| Clinique ophtalmologique | TERRIEN. |
| Clinique urologique | CHEVASSU. |
| Clinique d'accouchements | COUVELAIRE. JEANNIN. LÉVY-SOLAL. |
| Clinique gynécologique | MOCQUOT. |
| Clinique chirurgicale infantile et orthopédie | OMBRÉDANNE. |
| Clinique thérapeutique médicale | RATHERY. |
| Clinique oto-rhino-laryngologique | LEMAITRE. |
| Clinique thérapeutique chirurgicale | Pierre DUVAL. |
| Clinique propédeutique | Maurice VILLARET. |
| Clinique de la Tuberculose | TROISIER. |
| Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte | MATHIEU. |
| Clinique de cardiologie | LAUBRY. |
| Clinique de neuro-chirurgie | Clovis VINCENT. |
| Assistance médico-sociale | N... |
| Professeurs sans chaire | HAZARD. HOVELACQUE. MULON. OLIVIER. SANNIÉ. VERNE. |

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN.

## II. — AGREGES EN EXERCICE

| MM. | | MM. | |
|---|---|---|---|
| AMELINE | Pathologie chirurgicale. | CHEVALLIER | Pathologie médicale. |
| BARIETY | Pathologie médicale. | COSTE | Pathologie médicale. |
| BÉNARD (Henri) | Pathologie médicale. | DOGNON | Physique. |
| BERNARD (Etienne) | Pathologie médicale. | FEY | Urologie. |
| BEZANÇON (Justin) | Hydrologie. | FUNCK | Pathologie chirurgicale. |
| BOULIN | Pathologie médicale. | GALLIARD | Parasitologie. |
| BULLIARD | Histologie. | GASTINEL | Bactériologie. |
| CATHALA | Pathologie médicale. | DE GAUDART D'ALLAINES | Pathologie chirurgicale. |

## II. — AGREGES EN EXERCICE (*Suite*).

| MM. | |
|---|---|
| GAYET ..... | Physiologie. |
| DE GENNES .. | Pathologie médicale. |
| GIROUD ..... | Histologie. |
| HAGUENAU ... | Pathologie médicale. |
| HALPHEN .... | Oto-rhino-laryngologie. |
| HUGUENIN ... | Anatomie pathologique |
| JOANNON .... | Hygiène. |
| LACOMME .... | Obstétrique. |
| LANTUEJOUL.. | Obstétrique. |
| LAROCHE (Guy) | Pathologie médicale. |
| LAVIER ..... | Parasitologie. |
| LELONG ..... | Pathologie médicale. |
| LEMAIRE ..... | Pathologie expérimentale. |
| LEVEUF ..... | Pathologie chirurgicale. |
| Mlle J. LEVY . | Pharmacologie. |

| MM. | |
|---|---|
| LEVY-VALENSI. | Neurologie et Psychiâtrie. |
| MENEGAUX ... | Pathologie chirurgicale. |
| MOLLARET ... | Pathologie médicale. |
| MOREAU ..... | Pathologie médicale. |
| MOULONGUET. | Pathologie chirurgicale. |
| MOUQUIN ..... | Pathologie médicale. |
| PETIT-DUTAILLIS.. | Pathologie chirurgicale. |
| PIEDELIEVRE.. | Médecine légale. |
| PORTES ..... | Obstétrique. |
| RENARD ..... | Ophtalmologie. |
| RICHET ..... | Physiologie. |
| SENEQUE ..... | Pathologie chirurgicale. |
| TURPIN ..... | Pathologie médicale. |
| VIGNES ..... | Obstétrique. |
| WILMOTH .... | Pathologie chirurgicale. |

## III. — AGREGES RAPPELES A L'EXERCICE

### pour le service des examens

| MM. | |
|---|---|
| ALGLAVE ..... | Pathologie chirurgicale. |
| BUSQUET ..... | Pharmacologie. |
| CHAILLEY-BERT | Physiologie. |
| GUENIOT ..... | Obstétrique. |
| HEITZ-BOYER . | Pathologie chirurgicale. |

| MM. | |
|---|---|
| LARDENNOIS . | Pathologie chirurgicale. |
| LE LORIER ... | Obstétrique. |
| NEVEU-LEMAIRE. | Parasitologie. |
| SCHWARTZ ... | Pathologie chirurgicale. |
| VAUDESCAL .. | Obstétrique. |

## IV. — AGREGES CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

### à titre permanent

| MM. | |
|---|---|
| ALAJOUANINE. | Clinique médicale. |
| AUBERTIN. | |
| BRULE. | |
| CHABROL. | |
| DONZELOT. | |
| DUVOIR. | |
| LIAN. | |
| PASTEUR-VALLERY-RADOT. | |
| SEZARY. | |

| MM. | |
|---|---|
| BASSET. | Clinique chirurgicale |
| BROCQ. | |
| CADENAT. | |
| GATELLIER. | |
| MOURE. | |
| QUENU. | |
| VELTER. | |

| MM. | |
|---|---|
| ECALLE. | Clinique obstétricale. |
| METZGER. | |

## V. — CHARGES DE COURS

| MM. | |
|---|---|
| CHAILLEY-BERT, agrégé ..... | Education physique. |
| LEDOUX-LEBARD ..... | Radiologie clinique. |
| RUPPE ..... | Stomatologie. |
| WEIL-HALLE ..... | Puériculture. |

---

*Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.*

A Sa Majesté Impériale

REZA SCHAH PAHLAVI

notre Auguste Souverain

A mon Père

A ma Mère

*Qu'ils trouvent ici l'assurance d'une affection sincère et d'un amour indéfectible.*

A mon Frère

*Avec les sentiments de la plus tendre fraternité.*

A mes Sœurs

A mes Amis

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR TANON

Professeur d'Hygiène à la Faculté de Médecine de Paris.
Membre de l'Académie de Médecine.
Conseiller technique sanitaire du Ministère de la Santé Publique.
Inspecteur général des Services techniques d'Hygiène
à la Préfecture de Police.
Officier de la Légion d'Honneur.

*Qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse.*

*Qu'il veuille bien trouver ici l'assurance de notre respectueuse gratitude.*

A MES MAÎTRES

DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

A MON MAÎTRE

MONSIEUR LE DOCTEUR SEZARY

Professeur Agrégé de la Faculté de Médecine.

Médecin de l'Hôpital Saint-Louis.

*Avec nos remerciements pour les bienveillants accueils qu'il nous réserve dans son service.*

*Qu'il veuille agréer le témoignage de notre grande reconnaissance.*

A MON MAÎTRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR CARNOT

Professeur de Clinique Médicale à la Faculté.
Médecin de l'Hôtel-Dieu.
Membre de l'Académie de Médecine.

*Dont les cours de Clinique nous ont été de la plus grande utilité.*

*Qu'il trouve ici l'expression de nos respectueux hommages.*

# INTRODUCTION

La sérologie moderne, dont le but est de renseigner le clinicien sur certaines modifications humorales, qui surviennent au cours de la syphilis, et qui possède une valeur diagnostique certaine, dispose d'un nombre considérable de réactions ou de méthodes, qui peuvent, assez arbitrairement, en vue d'une schématisation, être classées en trois grandes catégories de réactions :

1) les réactions au sérum frais ou méthode active;

2) les réactions au sérum chauffé ou méthode inactive;

3) les réactions de floculation.

Chacune de ces catégories de réactions comprend une réaction initiale à laquelle s'attache le nom de celui, qui le premier la publia et l'initia au monde sérologique. Ainsi, la plus âgée des réactions-type est celle de Wassermann au sérum chauffé, qui s'inspira des travaux de Bordet. Mais cette réaction de Wassermann a subi de nombreuses variations et c'est ainsi que la technique originelle de Wassermann, tombée dans l'oubli, est remplacée aujourd'hui par des techniques perfectionnées, nouvelles, qui portent les noms de Calmette et Massol, de Jakobsthal, de Desmoulières, de Debens et de Demanche. Aussi

a-t-on adopté une appellation un peu différente : on désigne par méthode de Wassermann toutes les réactions, qui se pratiquent avec le résum inactivé, donc chauffé, et cette méthode se pratique suivant une technique moderne, dont les détails sont donnés par les auteurs sus-cités.

Dans le même ordre d'idées, on doit appeler aujourd'hui méthode de Hecht l'ensemble des réactions, qui se pratiquent avec le sérum frais, non chauffé, et cette méthode de Hecht est effectuée suivant une technique, qui peut être celle de Hecht ou d'un autre auteur.

Il nous a semblé intéressant d'étudier, sous l'inspiration de notre Maître, M. le Professeur Tanon, les différentes techniques, qui se rapportent à la réaction de Hecht, non pas dans le but de trouver la meilleure, car toutes les techniques présentent des avantages et des inconvénients, mais avec l'idée de rassembler un certain nombre de techniques différentes d'une seule et même méthode, pour que le sérologiste puisse, suivant ses possibilités, avoir le choix d'en adopter celle, qui conviendra le mieux, pour lui assurer, avec un matériel donné, le maximum de sécurité.

## HISTORIQUE

La réaction de Hecht a été conçue par son auteur en Novembre 1908 à une époque où l'arsenal sérologique ne comportait que la réaction originelle de Wassermann. Jeune sérologistre, M. Hecht ne se lassait pas d'analyser la réaction de son illustre prédécesseur, non point, pour lui trouver des faiblesses, mais animé par l'espoir de la rendre plus simple. Sachant que le sérum humain renfermait de l'alexine ou complément, il se demandait, pourquoi Wassermann le détruisit par chauffage, pour y ajouter ensuite un complément étranger, l'alexine de cobaye. Ayant appris d'autre part, que le sérum humain était hémolytique pour les globules de mouton, il se questionnait, pourquoi Wassermann ajoutait un complexe hémolytique anti-mouton. Résolu à mettre une fin à ces doutes, il entreprit une série de recherches, qui aboutirent à une communication, publiée dans le N° 50 de la « Wiener Klinische Wochenschrift ».

La réaction de Hecht, car c'est ainsi qu'elle fut appelée dès son début, trouva facilement un accueil en France. Dès 1910, elle fut adoptée par M. Levaditi à l'Institut Pasteur, dans une modification que ce dernier réalisa avec son collaborateur Latapie. En quelques années, la réaction de Hecht devint la mé-

thode de Hecht, la méthode de sérum frais. Nombreuses sont les techniques modifiées, parmi lesquelles celle de l'auteur. Cett etechnique définitive a été élaborée par M. Hecht en 17 années de recherches et de vérifications. Elle présente sur toutes les autres modifications l'avantage d'être personnelle à l'auteur de la méthode.

## NOTIONS SEROLOGIQUES

Pour la compréhension intégrale de notre exposé, nous croyons indispensable, que le lecteur connaisse les bases même de la sérologie actuelle. Aussi en ferons-nous un bref exposé.

On appelle antigène, toute substance capable de créer dans l'économie des anticorps.

On appelle anticorps toute substance créée par l'organisme pour neutraliser les effets d'un antigène, introduit par voie parenthérale. Suivant qu'un antigène est bactérien, toxique ou globulaire (globules rouges du sang) l'anticorps est bactériolytique, ou agglutinant, antitoxique ou hémolytique.

L'anticorps n'est pas une substance chimiquement caractérisée, et renferme au moins deux principes, indispensables à son action :

1) un principe thermostabile, l'ambocepteur ou sensibilisatrice;

2) un principe thermolabile, l'alexine ou complément.

Lorsqu'un anticorps est mis en présence de son antigène, la sensibilisatrice fixe le complément sur l'antigène et neutralise ainsi ce dernier.

Ceci se produit in vivo et in vitro.

Lorsqu'un anticorps chauffé à 56 degrés (dépourvu

ainsi de son principe thermolabile, l'alexine) est mis en présence de son antigène, le complément, étant détruit, ne peut pas être fixé sur l'antigène.

Ceci est vrai in vivo et in vitro.

Lorsqu'à un mélange, anticorps chauffé (inactivé)-antigène, on ajoute du sérum frais (renfermant du complément) il y a fixation, du complément sur l'antigène.

Ceci se réalise in vivo et in vitro.

Le diagnostic sérologique de la syphilis consiste en la mise en présence d'un antigène syphilitique avec un sérum suspect. Si le sérum suspect provient d'un malade syphilitique, il renferme des anticorps syphilitiques, donc les principes thermostabiles et thermolabiles; la sensibilisatrice fixera le complément sur l'antigène. Si le sérum suspect ne provient pas d'un malade syphilitique, il n'y aura pas de fixation.

Cette réaction est invisible.

Pour la rendre perceptible, on utilise deux systèmes différents :

1) un système antigène-anticorps syphilitique;

2) un système antigène-anticorps hémolytique incomplet.

Ces deux systèmes, dont le deuxième est privé de son complément, mis ensemble, la réaction devient lisible :

A) Si le sérum suspect est syphilitique, il y aura fixation du complément et le système hémolytique incomplet ne sera pas modifié.

B) Si le sérum suspect n'est pas syphilitique, le complément ne sera pas fixé; il pourra être dévié sur le deuxième système (système hémolytique) qui, ainsi complété, donnera lieu à une hémolyse.

Une fixation du complément (absence d'hémolyse) indiquera une réaction positive.

Une déviation du complément (hémolyse) indiquera une réaction négative.

## LA METHODE DE HECHT

La méthode de Hecht est basée sur les principes sérologiques généraux. Elle utilise en outre, le pouvoir hémolytique normal du sérum humain pour les globules rouges de mouton.

La méthode de Hecht se pratique avec du sérum frais. Au cas, où la réaction ne pourrait être effectuée aussitôt le sérum transsudé, il est préférable de conserver le sérum sur son caillot à la glacière.

La réaction s'effectue à la température de 37 degrés et à l'air. Il ne faut jamais pratiquer la réaction de Hecht seule. Il faut toujours lui associer deux autres réactions de type différent : une réaction type Wassermann et une réaction de floculation.

La méthode de Hecht présente sur toutes les autres l'avantage d'une très grande sensibilité, d'une très grande simplicité, mais d'une spécificité, qui laisse parfois à désirer.

Il est bon de doser le pouvoir hémolytique du sérum humain, avant de conclure.

Si ce pouvoir est insuffisant, on y remédie, en ajoutant du sérum hémolytique lapin anti-mouton, en quantité suffisante.

Ces cas sont rares.

Au cas, où l'alexine naturelle du sérum se trouve

en quantité insuffisante, on obtient des résultats, en ajoutant du sérum de cobaye qui renferme de l'alexine.

Ces cas sont rarissimes.

## LA TECHNIQUE DE HECHT

Pour effectuer la méthode de Hecht suivant l'auteur, il suffit d'avoir un antigène syphilitique (type Bordet-Ruelens) dont on détermine le titre une fois pour toutes, et du sang de mouton lavé en dilution à 8 p. 100.

La réaction comprend un titrage et la réaction proprement dite. Le schéma est monté de façon à ce que l'ensemble des opérations n'excède pas une durée de 1 h. et demie. Le titrage se fait pendant la première partie de la réaction et sert à déterminer la quantité de sang dilué, correspondant au pouvoir hémolytique du sérum suspect. Cette technique, que l'auteur avait publiée en 1926, a l'avantage d'être la plus spécifique de toutes les techniques précédemment proposées, tout en étant aussi sensible que la technique initiale. Elle utilise des quantités fixes d'antigène et des quantités croissantes de sérum suspect et se pratique en huit tubes à hémolyse d'après le schéma suivant :

## *Schéma de la Technique de Hecht.*

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Tubes Nr. ..... | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Sérum ..... | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,15 | 0,1 | 0,15 |
| Sérum physiologique .... | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | | | | |
| Antigène 1. (extr. simple). | — | — | — | — | 1,0 | 1,0 | — | — |
| Antigène 2. (extr. cholestériné) ..... | — | — | — | — | — | — | 1,0 | 1,0 |
| Etuve à 37° ..... | 25 minutes | | | | Une heure | | | |
| Sang à 8 % ..... | 0,1 | 0,3 | 0,5 | | Quantité titrée | | | |

## MODIFICATIONS DE LA METHODE DE HECHT

La méthode au sérum frais avait, dès son apparition, suscité l'approbation des uns, la critique des autres. L'approbation est nettement justifiée par la très grande simplicité de la réaction. Il ne faut en effet, pour son exécution, qu'un antigène éprouvé, de conservation pratiquement illimitée, et des globules rouges de mouton, qu'il est facile de se procurer dans les villes, comme à la campagne. Une étuve à 37 degrés est certes nécessaire, mais nous avons vu, pendant nos recherches personnelles, qu'une réaction de Hecht, abandonnée sur une table de laboratoire, se fait à la température moyenne de 18 degrés, et en un temps peu supérieur au séjour moyen dans l'étuve. L'on conçoit facilement les avantages énormes de cette méthode : d'une exécution extrêmement simple elle peut être confiée à des mains même peu expérimentées; d'une lecture facile, donnant rarement des résultats douteux; d'une sensibilité, qui ne peut se comparer qu'à la réaction de présomption de Kahn.

La voix de la critique, par contre, est moins riche en arguments, puisque seule la spécificité de la réaction est mise en doute. En effet, la réaction de Hecht est quelquefois positive pour des sérums non

syphilitiques. L'auteur reconnaît cette faiblesse de sa réaction et pense qu'une technique très rigoureuse et une interprétation très subtile peuvent y remédier. Mais la réaction de Hecht ne doit jamais être pratiquée seule, l'auteur même, s'il en fait la réaction principale de ces essais, y associe toujours une réaction au sérum chauffé et une autre de floculation. En outre, l'emploi de deux, voire trois antigènes, diminue encore les chances d'erreur. Mais la principale tâche des sérologistes, qui se sont occupés de la réaction de Hecht a été de trouver les quantités optima d'antigène et de sérum, et de rendre la réaction, soit plus simple, soit plus perfectionnée, avec l'espoir de la voir plus spécifique. Nous avons essayé de classer toutes les techniques modifiées de la méthode de Hecht en cinq groupes, à savoir :

1) les simplifications;
2) les les perfectionnements;
3) les variations de l'antigène;
4) les variations du sérum;
5) les variations des globules de mouton.

Il va de soi, qu'un pareil groupement a tout du schéma. Car même les réactions les plus simples ont un des éléments en quantité variable, presque toujours le sérum suspect en quantité fixe. Mais nous voulons maintenir ce groupement, parce qu'il présente l'avantage d'être plus concret, permettant un aperçu général des techniques, plus précis.

## LES SIMPLIFICATIONS

Une simplification très précieuse constitue la répartition des liquides par gouttes, et non par fractions de centimètres cubes. Il n'est, en effet, pas toujours facile d'avoir à sa disposition un matériel de pipettes d'un jaugeage rigoureux; il est par contre toujours possible de fabriquer une pipette étirée à la flamme, pas trop fine, qui permette une répartition très régulière. Aussi cette modification est-elle très répandue.

Une autre simplification consiste à réduire le nombre des tubes. Ainsi la réaction peut être effectuée en très grande série, sans aucune difficulté. La technique, dont on se sert dans bon nombre de services hospitaliers à Paris est celle, imaginée par Bernard et Joltrain, et dont le schéma est le suivant :

| Numéros des tubes | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|
| Sérum frais suspect .. | 2 gouttes | 2 gouttes | 2 gouttes |
| Antigène ..... | 2 — | 3 — | 0 — |
| Eau physiologique .... | 16 — | 15 — | 18 — |
| | Etuve pendant une demi-heure. | | |
| Globules lavés au 1/2 . | 1 — | 1 — | 1 — |

Deux tubes pour la réaction, un tube (3) comme témoin de la réaction. Le tube témoin permet en

effet de constater, après un séjour à l'étuve, si le sérum suspect est suffisamment hémolytique pour une goutte de sang au ½. Nous conseillons cependant à titre personnel, d'ajouter les globules de mouton au tube n° 3 avant la mise en étuve. Après un séjour d'une demi-heure à l'étuve, et avant de garnir les tubes n°s 1 et 2 avec les globules de mouton, s'assurer, que le tube n° 3 est complètement hémolysé; on saura que les hémolysines naturelles du sérum soumis à l'examen s'y trouvent en quantité suffisante et on pourra attendre avec confiance le résultat de l'examen.

La technique de Bernard et Joltrain ne tient pas compte du titrage du pouvoir hémolytique. Elle part en effet du principe, que dans la grande majorité des cas, ce titrage est inutile, les hémolysines naturelles du sérum humain étant presque toujours en quantité suffisante. Le tube témoin permet par ailleurs de constater la suffisance des hémolysines. Mais l'inconvénient de cette méthode réside dans le fait, qu'un excès d'hémolysines, ce qui se voit parfois, passe totalement inapperçu, et permet ainsi des fausses réactions négatives. Dans ce cas, les deux autres réactions, faites simultanément avec la méthode de Hecht, permettent de parer au danger d'une fausse interprétation.

Une modification curieuse de la méthode de Hecht a été donnée en 1928 par Tsü. Cet auteur n'utilise que deux tubes, et la réaction est faite, en partie par agitation, ce qui remplace le premier séjour à

l'étuve, l'hémolyse par contre s'obtient à 37 degrés.

Le schéma de Tsü est comme suit :

| | Réaction | Témoin |
|---|---|---|
| Antigène de Bordet-Ruelens 1/20 .... | 0,2 cc. | 0,0 cc. |
| Sérum suspect frais ..... | 0,2 — | 0,2 — |
| | Agiter fortement chaque tube pendant 1 min. | |
| Globules rouges à 1 % ..... | 0,4 — | 0,4 — |
| | Etuve à 37° pendant 10 à 15 minutes. | |

La modification de Tsü est la plus simple qui soit. Elle s'effectue en un temps très court (15 à 16 minutes au plus). En outre, elle a la particularité d'être une réaction de floculation combinée à une réaction d'hémolyse. Les auteurs avaient depuis longtemps remarqué, que l'hémolyse se fait après agglutination des globules et que le phénomène de la fixation ou de la déviation était très probablement un phénomène électro-chimique, que l'agitation pouvait faciliter.

## LES PERFECTIONNEMENTS

La plus grande faiblesse de la réaction de Hecht étant sa valeur spécifique faible (ou peu élevée) les recherches ont naturellement été dirigées vers une augmentation de cette valeur, tout en lui conservant une très grande sensibilité. Ceci a été obtenu en partie, mais au prix de la simplicité et certains auteurs n'hésitent pas à utiliser jusqu'à vingt tubes à hémolyse à montage compliqué et à répartition délicate pour cette réaction au sérum frais.

On avait en outre pensé, que la réaction se faisait plus promptement au bain-marie qu'à l'étuve et on avait utilisé des bains-maries spécialement construits à cet effet et maintenus par un dispositif spécial à une température de 37 degrés. Ceci nécessite naturellement une installation compliquée et coûteuse. Une petite étuve à 37 degrés se trouve dans tous les laboratoires et sert autant en bactériologie qu'en sérologie. Ces bains-maries par contre, ne servent qu'à la réaction de Hecht et ne peuvent constituer que l'appanage de certains laboratoires richement dotés.

La technique, qui a donné les meilleurs résultats, tant au point de vue de la sensibilité qu'au point de vue de la spécificité est celle, qui est connue outre

Atlantique, sous le nom de réaction de Hecht-Weinberg-Gradwohl. Introduite aux Etats-Unis vers 1914 par R. B. H. Gradwohl, elle effectue en une seule réaction le titrage complet des hémolysines, tel qu'il fut préconisé par Weinberg en 1912, et la réaction originelle de Hecht en 1910.

Le schéma de cette réaction comporte 14 tubes et la répartition se fait de la manière suivante :

| Tubes ..... | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Sérum frais. | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Antigène .. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 0,1 | 0,15 | 0,20 | — |
| Eau phys. . | 1,0 | 0,9 | 0,8 | 0,7 | 0,6 | 0,5 | 0,4 | 0,3 | 0,2 | 0,1 | 0,2 | 0,15 | 0,1 | 0,3 |
| Sang de mouton à 5 %. | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,5 | 0,6 | 0,7 | 0,8 | 0,9 | 1,0 | — | — | — | — |
| | Lecture de l'hémolyse après une demi-heure de bain-marie à 37°. | | | | | | | | | | Après lecture du titre, ajouter la quantité de sang correspondante. Bain-marie à 37° une demi-heure. | | | |

La technique, dont nous venons de donner le schéma, comporte deux parties totalement différentes : la première constitue une échelle de titrage complète et sert à déterminer la quantité de sang de mouton à 5 %, qui peut être lysée par un volume donné de sérum suspect en un temps donné, dans des conditions de température fixe. Cette quantité, que nombre d'auteurs appellent l'index hémolytiques, varie avec chaque sérum, et pour effectuer la réaction de Hecht, d'une manière très scientifique,

il est nécessaire de connaître l'index hémolytique pour chaque sérum. L'index varie peu dans la grande majorité des cas, mais en général il peut s'échelonner entre 0,1 et 1,0, voire même être nul. Pour un sérum, qui a un index hémolytique nul, la réaction de Hecht ne donne pas de résultat; il faut donc soustraire ce sérum de la série et le soumettre à d'autres réactions de type différent. Ces cas sont, suivant M. Hecht et d'autres auteurs, rarissimes. Mais l'index hémolytique une fois exactement déterminé, c'est-à-dire la quantité maxima de sang de mouton à 5 %, lysée par 0.1 cc. de sérum suspect en trente minutes au bain-marie à 37°, l'on ajoute cette quantité de sang aux quatre tubes de la réaction. Si le complément est fixé, l'hémolyse n'aura pas lieu, et on ne court pas le risque de voir une fausse hémolyse dûe à un excès d'hémolysines par rapport au sang. Si le complément est dévié, l'hémolyse est totale et suffisante; l'on ne risque pas une fausse absence d'hémolyse dûe à l'insuffisance des hémolysines par rapport au sang.

Cette réaction a en outre l'avantage de ne pas durer plus d'une heure. Les portoirs sont plongés dans le bain-marie; tandis que le titrage se fait dans la première série de 10 tubes, la fixation ou la déviation du complément s'effectue dans les quatre tubes-réaction. Après adjonction de la quantité maxima de sang de mouton lysable, et un séjour de trente minutes au bain-marie, l'on procède à la lecture des résultats.

Certains auteurs ont multiplié encore, les tubes de titrage, et la progression, au lieu d'être de 0,1 est de 0,05; cette précaution nous semble inutile; la détermination de l'index hémolytique à 0,1 cc. près, nous semble largement suffisante; nous avons vu que M. Hecht a adopté dans son titrage la progression : 0,1, 0,3, 0,5, donc détermination à 0,2 près, qui fut très satisfaisante pour l'auteur.

D'autres auteurs ont multiplié les tubes réaction, soit avec des doses croissantes d'antigène, soit avec des doses croissantes de sérum suspect et une dose fixe d'antigène. Cette précaution nous semble également sans fondements. En commençant par des doses égales d'antigène et de sérum, l'on fait croître soit l'antigène, soit les quantités de sérum, jusqu'à la dose double de celle, qui se trouve dans le premier tube. Ce mode de procéder, donne une précision suffisante pour les réactions fortement, moyennement ou faiblement positives, suivant que la fixation se fait avec la dose faible, moyenne ou forte de l'antigène. Une absence d'hémolyse dans les trois tubes indique une réaction positive; le quatrième tube, dépourvu d'antigène, sert de témoin et doit toujours être hémolysé, si la quantité maxima de sang a été rigoureusement déterminée.

La réaction de Hecht dans sa technique de Rubinstein Gradwohl, constitue à notre avis la meilleure réaction au sérum frais; étant très sensible (plus sensible que la réaction type Wassermann), étant suffisamment spécifique (aussi spécifique que la réaction

de Wassermann, d'après la technique de CALMETTE et MASSOL), n'étant ni trop compliquée dans son exécution, ni trop longue à effectuer, elle n'a qu'un seul inconvénient : d'exiger un matériel impeccable, d'un prix assez élevé.

## LES VARIATIONS DE L'ANTIGENE

Les variations de l'antigène peuvent être qualitatives ou quantitatives.

Quand nous disons « antigène », nous pensons toujours à l'extrait de cœur de bœuf, préparé, selon Bordet et Ruenlens et fabriqué par l'Institut Pasteur et par l'Institut Alfred Fournier.

Mais nous avons vu dans la technique originelle de Hecht, que celui-ci employait, à côté de l'antigène simple, un antigène cholestériné, et cette manière d'agir est devenue presque habituelle. L'antigène cholestériné est un antigène de cœur de bœuf selon Bordet-Ruelens, auquel on ajoute une quantité de cholestérine, variable selon les auteurs, ce qui fait de l'émulsion une suspension colloïdale. Plus sensible que l'antigène simple, il serait néanmoins moins spécifique. L'on peut, comme autrefois, employer l'extrait de foie hérédo-syphilitique, qui, devant son obtention difficile, ne présente aucun avantage particulier. Mais on peut se servir d'extraits de cœur de veau pour la réaction de Hecht, à condition toutefois, d'éprouver l'antigène avec une série de sérums, dont les uns certainement négatifs, les autres certainement positifs.

Les variations quantitatives sont plus intéressantes.

L'on peut employer l'antigène à dose fixe, en faisant varier la quantité de sérum, mais on peut également, pour des quantités fixes de sérum, varier la dose d'antigène, soit en commençant par une dose élevée, en décroissant, soit par une petite dose, en augmentant. Il est nécessaire d'avoir, soit dans le premier tube, soit dans le dernier, des quantités égales d'antigène et de sérum. Nous donnons par la suite deux schémas, l'un à doses d'antigène croissantes, l'autre à doses décroissantes. Le premier correspond à la technique de Levaditi-Latapie, le second à la technique de Tribondeau.

| Tubes | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|
| Antigène | 0,1 | 0,2 | — |
| Eau phys. | 0,2 | 0,1 | 0,3 |
| Sérum suspect | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| | Etuve à 37° une heure | | |
| Globules de mouton à 5 %. | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| | Etuve à 37° trente minutes | | |
| Résultat positif | H. nulle | H. nulle | H. totale |
| Résultat négatif | H. totale | H. totale | H. totale |

| Tubes | 1 (T) | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|
| Antigène de Noguchi à 1 %. | — | 0,8 | 0,4 | 0,2 | 0,1 |
| Sérum suspect | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Eau phys. | 0,8 | — | 0,4 | 0,6 | 0,7 |
| | Etuve à 37° une heure | | | | |
| Globules de mouton à 5 %. | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| | Etuve à 37° trente minutes | | | | |

Notation des résultats : — — — — réaction négative.
+ — — — faiblement positive.
+ + — — moyennement positive.
+ + + — fortement positive.
+ + + + très fortement positive.

## LES VARIATIONS DU SERUM

Si les variations de l'antigène sont les plus fréquentes, certains auteurs préfèrent éprouver des quantités variables de sérum suspect par rapport à une dose fixe d'antigène, dont les propriétés sont très exactement connues.

En effet, soit un antigène qui à la dose de 0,2 cc. fixe la totalité du complément d'un sérum syphilitique, empêchant ainsi la moindre hémolyse; il n'est pas indifférent de savoir si ce pouvoir neutralisant se trouve dans une petite ou grande quantité de sérum.

Un sérum est d'autant plus positif, qu'il renferme plus de sensibilisatrice sous un plus petit volume, ou encore, plus la quantité de sérum est petite, capable de renfermer la quantité de sensibilisatrice nécessaire et suffisante, pour fixer l'alexine sur une dose connue et invariable d'antigène, plus le sérum sera positif.

Cette idée est exprimée en une technique, publiée en 1932 par William Lévy, et dont le schéma est le suivant :

| N° des tubes ..... | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Eau physiologique . | 1,65 | 1,6 | 1,5 | 1,4 | 1,3 | 1,85 | 1,8 | 1,7 | 1,6 | 1,5 |
| Sérum suspect ..... | 0,05 | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,05 | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,4 |
| Antigène ..... (Noguchi ou foie hérédo) | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | | | | | |
| | | | | 30 minutes à 37° | | | | | | |
| Globules de mouton. | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |

Les 5 premiers tubes servent à la réaction les 5 derniers sont les tubes témoins. Le premier tube parmi les témoins qui a hémolysé complètement, montre que le complexe hémolytique du sérum contenu est égal à l'unité, et l'on fait la lecture des résultats dans le tube à réaction qui contient la même quantité de sérum.

*Réaction négative* : Les tubes témoins et ceux à réaction présentent le même aspect :

T. T. = $H_0$ $H_2$ $H_6$ $H_8$ $H_8$ T. R. = $H_0$ $H_2$ $H_6$ $H_8$ $H_8$

*Réaction positive* (fortement) : aucun des tubes à réaction n'a hémolysé; un, plusieurs ou tous les tubes témoins ont hémolysé.

*Réactions positives* (atténuées ou douteuse ou positive limite) :

La comparaison du 1er tube témoin franchement hémolysé et du tube à réaction correspondant donne le résultat :

Positif limite.

T. R. = $H_0$ $H_0$ $\mathbf{H_0}$ $H_1$ $H_6$ T. T. = $H_3$ $H_6$ $\mathbf{H_8}$ $H_8$ $H_8$

Positif atténué.

T. R. = $H_0$ $H_0$ $H_0$ $\mathbf{H_1}$ $H_5$ T. T. = $H_0$ $H_2$ $H_5$ $\mathbf{H_8}$ $H_8$

Positif douteux.

T. R. = $H_0$ $H_1$ $\mathbf{H_4}$ $H_6$ $H_8$ T. T. = $H_4$ $H_6$ $\mathbf{H_8}$ $H_8$ $H_8$

## LES VARIATIONS DES GLOBULES

Le pouvoir hémolytique des sérums humains varie dans des proportions parfois considérables; nul chez le nouveau-né, il présente chez l'adulte des différences de 0 à 20 (Rubinstein). Donc pour chaque sérum le taux de dilution et la quantité de globules doivent être très exactement connus.

Les globules de mouton lavés s'emploient à des taux de dilution qui varient suivant les auteurs. M. Hecht emploie les globules à 8 %, c'est-à-dire 8 gouttes de globules, débarrassés de leur plasma, lequel a été remplacé par du sérum physiologique en quantité égale, dilués dans 92 gouttes de sérum physiologique. En France, on a coutume à employer des dilutions plus faibles, à 5 %; certains auteurs par contre, emploient des dilutions 10 fois plus grandes, à 50 %, comme Bernard et Joltrain. Il est préférable de choisir une fois pour toutes une dilution de globules et de travailler toujours avec la même dilution, à des taux variables. La dilution de base optima nous semble celle à 5 %. Les opacités obtenues par ces dilutions sont suffisantes pour permettre une lecture facile; par ailleurs, l'hémolyse est transparente, claire et facilement reconnaissable.

Le pouvoir hémolytique des sérums étant variable, il est nécessaire d'éprouver l'index hémolytique pour chaque sérum. Pour cela on se sert d'un des schémas

de titrage, dont le plus perfectionné émane de WEINBERG et que nous reproduisons par la suite.

| Tubes .... | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Sérum frais | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Globules à 5 % ..... | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,5 | 0,6 | 0,7 | 0,8 | 0,9 | 1,0 |
| Sérum phys. | 1,0 | 0,9 | 0,8 | 0,7 | 0,6 | 0,5 | 0,4 | 0,3 | 0,2 | 0,1 |
| Hémolyse | tot. | tot. | tot. | tot. | part. | part. | part. | nulle | nulle | nulle |

Dans l'exemple choisi, l'index hémolytique est 4, c'est dire que 0,1 cc. de sérum sont capables de lyser en un temps déterminé, soit trente minutes, 0,4 cc. de sang de mouton à 5 %. Il faudra donc ajouter 0,4 cc. de sang de mouton à chacun des tubes de la réaction. L'on prend habituellement dans ces titrages la dose maxima, lysée en un temps donné. Si cette dose maxima est inférieure ou atteint 0,5 cc., on peut employer cette quantité telle quelle. Mais si la dose maxima est supérieure à 0,5, il est bon de faire une petite modification : ramener cette dose de globules à un volume moindre, de concentration plus élevée. La dose maxima a-t-elle été de 0,8, pour une concentration de 5 %, on emploiera 0,4 cc. d'une dilution à 10 %, voire 0,2 cc. d'une dilution à 20 %. Cela évite d'ajouter aux tubes réaction une trop grande quantité de liquide, tout en utilisant les doses maxima, trouvées pour le sérum. Si pour des raisons techniques, on n'a pu faire un titrage rigoureux, nous conseillons 0,2 cc. d'une dilution à 5 %, qui dans la grande majorité des cas est suffisante.

## CONCLUSIONS

La réaction de déviation du complément au sérum frais (actif) est pratiqué suivant un nombre considérable de technique. Toutes celles-ci ont été conçues d'après la réaction originelle de Hecht, et sont basées sur les mêmes principes, avec quelques petites modifications.

Non seulement la nomination courante de « Réaction » ne leur convient pas, mais encore les noms d'auteurs qui les caractérisent, plaident injustement en faveur de leur indépendance.

Si la distinction entre « Réaction » et « Technique » est de rigueur, une classification de différentes modalités techniques, en vue de clarté, s'impose encore davantage.

Nous avons analysé ces différentes techniques, et classé les modifications apportées à la réaction de Hecht en 5 groupes :

1) Les simplifications.
2) Les perfectionnements.
3) Les variations de l'antigène.
4) Les variations du sérum.
5) Les variations des globules.

Ainsi parmi 72 modalités techniques (soi-disant : réactions) que nous avons pu rassembler, nous ne

distinguons que 5 variantes d'une seule et même réaction.

De chaque variante, nous avons donné l'exemple qui nous a semblé le plus caractéristique, en essayant d'attirer l'attention sur les avantages et les inconvénients de chacune d'elles afin que le lecteur puisse adopter pour ses recherches, celle qui s'adapte au mieux à ses exigences et ses possibilités matérielles.

Nous avons aussi voulu rendre justice à la réaction de Hecht que d'aucuns accusent comme étant peu scientifique, en montrant que par des variations rationnelles de la technique (WEINBERG-GRADWOHL), on pouvait, sans porter atteinte à sa grande sensibilité, augmenter sa spécificité, et par des titrages préliminaires rigoureux, lui donner une valeur scientifique suffisante.

*Vu : Le Président de la Thèse,*
L. TANON.

*Vu : Le Doyen,*
M. TIFFENEAU.

Vu et permis d'imprimer :

*Le Recteur de l'Académie de Paris,*
G. ROUSSY.

## BIBLIOGRAPHIE


BERNARD et JOLTRAIN. — *Compt. rend. soc. biol.*, 12-7-1919, 811.

DEMANCHE. — Séro-diagnostic (Doin Edit.).

GRADWOHL. — *Amer. Journ. of syph.* Vol. 1, fascicule 3, 1917.

HECHT. — *Wiener Klinische Wochenschrift*, 1908, N° 50.

—— *Wiener Klinische Wochenschrift*, 1909, Nr. 8.

—— *Dermatologische Wochenschrift*, Nr. 13, 1922.

—— *Clinische Wochenschrift*, 1926, Nr. 44.

—— *Annales de l'Institut Pasteur*, Mars 1928.

LEVADITI et LATAPIE. — *Presse méd.*, 1911, Nr. 88, Arc. R. 115, Tome 127.

LÉVY (William). — *Ann. mal. vénér.*, 27, p. 742-771, 1932.

RUBINSTEIN. — *C. rend. soc. de biol.*, 20, I, 1917.

—— *Paris méd.*, 3, II, 1928.

—— *Presse méd.*, 7, VII, 1919, 373.

SÉZARY et LÉVY. — *Presse méd.*, 1914, I, p. 545-646.

TELMON. — *Presse méd.*, 23, IX, 1915.

WEINBERG. — *Ann. de l'Institut. Pasteur*, Nr. 6, p. 424, 1912.

—— *Compt. rend. soc. de biol.*, 434, 1912.

WEINBERG et MUTERMILCH. — *Rev. hyg. de la méd. prévent.* Tome 49, Nr. 2.

RODILLON. — (Maloine Edit., 1919).

MUTERMILCH et LATAPIE. — *C. rend. des séances de la soc. de biol.* Tome 86, Nr. 14, p. 748, 1922.

GÉRARD et MOISSONNIER. — *Compte rendu des séances de la soc. de biol.* Tome 91, Nr. 37, p. 1371-1373.



IMPRIMERIE SPÉCIALE DE LA LIBRAIRIE LEGRAND — 6-3-39